20

饲粮中添加高剂量茶多酚对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质和脂质代谢的影响 1 2 何俊金 王建萍 丁雪梅 曾秋凤 白世平 张克英\* (四川农业大学动物营养研究所,动物抗病营养教育部重点实验室,动物抗病营养与饲料农 3 业部重点实验室,成都 611130) 4 5 要:本试验旨在研究饲粮中添加高剂量茶多酚对产蛋后期蛋鸡生产性能、蛋品质、血清 脂质代谢指标和肝脏脂质代谢相关基因表达的影响。选用 480 羽 65 周龄罗曼粉壳蛋鸡作为 6 试验动物, 随机分成4组, 每组8个重复, 每个重复15羽。对照组饲喂基础饲粮, 3个试 7 8 验组分别饲喂在基础饲粮中添加 666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚 (纯度为 63.58%, 其中 9 儿茶素含量为40.20%)的试验饲粮,预试期2周,正试期9周。结果显示:1)与对照组相 比,添加  $2\,666\,\text{mg/kg}$  茶多酚显著降低产蛋率 (第  $1\sim3$  周、第  $4\sim6$  周和第  $1\sim9$  周)、平均 10 日采食量(第 $1\sim3$ 周、第 $4\sim6$ 周、第 $7\sim9$ 周和第 $1\sim9$ 周),显著升高料蛋比(第 $1\sim3$ 11 12 周和第 4~6 周); 1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚组的平均蛋重在第 1~3 周、第 4~6 周和第 1~ 9周显著低于对照组(P<0.05)。2)与对照组相比,饲粮添加2666 mg/kg茶多酚显著提高 13 第2周哈夫单位(P<0.05), 且显著降低第2周蛋壳比率(P<0.05); 饲粮添加1333 mg/kg 14 15 茶多酚显著提高第 4 周哈夫单位 (P<0.05),且显著降低第 2 周蛋壳比率 (P<0.05);饲粮添 16 加 666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚均显著降低第 9 周蛋黄胆固醇含量(P<0.05); 饲粮添 17 加 666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚对蛋壳强度、蛋黄颜色、蛋黄比率、蛋白比率及蛋黄脂 18 肪酸组成均无显著影响(P>0.05)。3)与对照组相比,饲粮添加 666、1 333 和 2 666 mg/kg

收稿日期: 2018-04-17

基金项目: 国家科技支撑计划(2014BAD13B04); 四川省蛋鸡产业链项目(2014NZ0002); 四川省科创饲料产业技术研究院(2013NZ0054)

茶多酚显著降低血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇(P<0.05),饲粮添加1333和2666

mg/kg 茶多酚显著降低血清甘油三酯含量 (P<0.05)。4) 与对照组相比, 饲粮添加 666、1333

作者简介:何俊金(1991—),男,四川绵阳人,硕士研究生,从事家禽营养研究。E-mail:

413899685@qq.com

<sup>\*</sup>通信作者: 张克英, 教授, 博士生导师, E-mail: zkeying@sicau.edu.cn

- 21 和 2 666 mg/kg 茶多酚显著提高肝脏腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK) mRNA 相对表达量
- 22 (P<0.05)。由此可知,饲粮中添加高剂量(1333和2666mg/kg)的茶多酚会降低蛋鸡产
- 23 蛋后期的生产性能,但可以提高鸡蛋的哈夫单位,降低血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇
- 24 含量及蛋黄胆固醇含量,并上调肝脏 AMPK 基因的表达。
- 25 关键词: 茶多酚; 蛋鸡; 生产性能; 蛋品质; 脂质代谢
- 26 中图分类号: S816 文献标识码: A 文章编号:
- 27 我国是世界上最大的鸡蛋生产和消费国,鸡蛋产量约占全世界总产量的45%,且呈逐年
- 28 上升的趋势。目前高产蛋鸡产蛋后期 45 周龄时产蛋率降到 88%左右,而后产蛋率下降速度
- 29 逐渐增快,80周龄时下降到60%左右。同时,长期高产蛋积累的应激导致鸡蛋品质下降,
- 30 包括蛋壳质量和蛋清品质,因而如何提高鸡蛋品质特别是产蛋后期的鸡蛋品质至关重要。前
- 31 人研究报道也证实氧化应激造成的繁殖性能衰退可能是蛋鸡产蛋后期和应激时产蛋性能下
- 32 降的主要原因[1]。
- 33 茶多酚(tea polyphenols)是茶叶中多酚类物质的总称,主要为儿茶素类(占 60%~80%),
- 34 是茶叶中有保健功能的主要成分之一。茶多酚具有较强的抗氧化能力,研究表明其抗氧化能
- 35 力是维生素 C 的 25 倍,是维生素 E 的 80 倍[2-3]。茶多酚具有抑菌、抗病、改善肠道微生物
- 36 环境和降血脂等作用,可保障动物机体健康,但对蛋鸡生产性能的影响并不一致[4]。同时,
- 37 有研究报道,茶多酚能够一定程度上改善鸡蛋品质,降低鸡蛋中的胆固醇含量[4]。楼洪兴等
- 38 <sup>[5]</sup>等研究发现,在蛋鸡饲粮中添加 250、550 和 1 000 mg/kg 茶多酚 (纯度为 40%) 对蛋鸡产
- 39 蛋率有一定的改善作用,但随着茶多酚的添加水平的提高未见有增高趋势,添加 400 mg/kg
- 40 茶多酚降低 46 周龄蛋鸡血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白含量并提高高密度脂蛋白
- 41 含量; 张旭等<sup>[6]</sup>在蛋鸡饲粮中添加 100 mg/kg 茶多酚 (纯度为 98%) 能够显著提高平均蛋重,
- 42 显著降低料蛋比和蛋黄胆固醇含量; Biswas 等<sup>[7]</sup>发现,饲粮添加 300 mg/kg 的绿茶粉使蛋鸡
- 43 采食量显著下降,平均蛋重显著降低。由此可见,茶多酚对蛋鸡生产性能和蛋品质影响的报
- 44 道并不一致,这可能与茶多酚添加物的纯度和添加剂量不同有关。目前茶多酚对蛋鸡脂质代
- 45 谢影响的研究较少,有待进一步的揭示。因此,本试验通过考察高剂量茶多酚对产蛋后期蛋
- 46 鸡生产性能、蛋品质和脂质代谢的影响,探讨提高产蛋后期蛋鸡产蛋性能和蛋品质的营养手
- 47 段。

- 48 1 材料与方法
- 49 1.1 试验材料
- 50 试验所用茶多酚产品由四川克鲁尼茶叶生物科技有限公司提供,其纯度为63.58%,其
- 51 中儿茶素含量为 40.20%, 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)含量为 21.97%, 咖啡碱含量为
- 52 6.84%。
- 53 1.2 试验动物与饲粮
- 54 试验选用 65 周龄健康罗曼粉壳蛋鸡 480 羽,采用单因素完全随机设计,将蛋鸡分为 4
- 55 组,每组8个重复,每个重复15羽。预试期2周,正试期9周。
- 56 试验用基础饲粮为玉米-豆粕型饲粮,在四川农业大学动物营养研究所试验基地参照我
- 57 国《鸡饲养标准》(NY/T 33-2004)中蛋鸡营养成分推荐值配制。基础饲料组成及营养水平
- 58 见表 1。
- 59 表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	66.20
豆粕 Soybean meal	23.00
豆油 Soybean oil	0.30
碳酸钙 CaCO3	8.67
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	0.95
食盐 NaCl	0.35
氯化胆碱 Choline chloride	0.16
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.14
维生素预混料 Vitamin premix <sup>1</sup>	0.03
矿物质预混料 Mineral premix <sup>2)</sup>	0.20
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>3)</sup> 的测定值 Analyzed	

代谢能 ME/(MJ/kg)	11.34
钙 Ca	3.61
粗蛋白质 CP	15.26
有效磷 AP	0.28
蛋氨酸 Met	0.34
赖氨酸 Lys	0.69

- 61 1)维生素预混料为每千克饲粮提供 Vitamin premix provided the following per kilogram of
- 62 the diet: VA 8 000 IU, VD<sub>3</sub> 1 600 IU, VE 5 IU, VB<sub>1</sub> 0.8 mg, VB<sub>2</sub> 2.5 mg, VB<sub>6</sub> 1.5 mg, VB<sub>12</sub> 0.004
- mg, D-泛酸 D-pantothenic acid 2.2 mg, 叶酸 folic acid 0.25 mg, 烟酸 nicotinic acid 20 mg,
- 64 生物素 biotin 0.1 mg。
- 65 2)矿物质预混料为每千克饲粮提供 Mineral premix provided the following per kilogram of
- 66 the diet:Mn  $(MnO_2)$  60 mg, Zn  $(ZnSO_4\cdot7H_2O)$  80 mg, Cu  $(CuSO_4\cdot5H_2O)$  8 mg, Fe
- 67 (FeSO<sub>4</sub>•7H<sub>2</sub>O) 60 mg, I (KI) 0.35 mg, Se (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>•5H<sub>2</sub>O) 0.3 mg<sub>o</sub>
- 68 3 代谢能为计算值,其他为测定值。ME was a calculated value, while the others were
- 69 measured values.
- 70 1.3 试验设计与饲养管理
- 71 将 4 组蛋鸡随机分为 1 个对照组和 3 个试验组,对照组蛋鸡饲喂基础饲粮,试验组蛋
- 72 鸡分别饲喂在基础饲粮中添加 666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚的试验饲粮。
- 73 饲养试验在四川农业大学动物营养所试验场进行。所有试验蛋鸡均采用 3 层阶梯式笼
- 74 养,每笼3只鸡,连续的5笼为1个重复,每组8个重复。全程采用粉料饲养,光照16h,
- 75 舍内温度控制在 22 °C左右,自由饮水,每天喂食 2 次(09:00 和 15:00),并观察鸡只有无
- 76 异常行为,每天 16:00 拣蛋并记录称重。定期打扫圈舍卫生,并按常规程序进行鸡只免疫和
- 77 圈舍消毒。
- 78 1.4 测定指标与方法
- 79 1.4.1 生产性能指标的测定
- 80 产蛋率、平均蛋重:正式试验期内每日以重复为单位记录产蛋数和产蛋重,计算产蛋率
- 81 和平均蛋重。

- 82 平均日采食量:每天记录饲粮的添给与损耗情况,每周结算饲粮总采食量,计算平均日
- 83 采食量。
- 84 料蛋比:根据产蛋总重和饲粮总采食量计算料蛋比。
- 85 1.4.2 蛋品质指标的测定
- 86 在试验第9周结束时每个重复采集2枚外形完好、重量接近平均蛋重的鸡蛋(16:00
- 87 采集,19:00 测定蛋品质),采用蛋品质全自动测定仪(EMT-7300,日本)对蛋壳强度、蛋黄颜
- 88 色和哈夫单位进行测定。小心移除蛋清后,对蛋黄重和蛋壳重进行称量,计算蛋壳比率、蛋
- 89 黄比率和蛋白比率。
- 90 蛋壳比率(%)=100×蛋壳重/蛋重;
- 91 蛋黄比率 (%) =100×蛋黄重/蛋重;
- 92 蛋白比率 (%) =100× (蛋重-蛋黄重-蛋壳重)/蛋重。
- 93 蛋黄胆固醇含量:使用高效液相色谱法测定蛋黄胆固醇含量,具体方法参照 GB/T
- $94 \qquad 22220 \hbox{--} 2008\, \circ$
- 95 蛋黄脂肪酸组成:使用气相色谱法测定蛋黄脂肪酸组成,具体方法参照 NY/T 2068-2011。
- 96 1.4.3 血清脂质代谢指标的测定
- 97 在试验第9周结束时,每个重复随机挑选1只健康的蛋鸡,从翅静脉抽取10 mL血液,
- 98 分离血清,-20 ℃保存,采用全自动生化分析仪(HITACHI7020,日本)测定血清甘油三酯
- 99 (TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白(LDL-C)含量。
- 100 1.4.4 肝脏脂质代谢相关基因 mRNA 相对表达量的测定
- 101 将采集血液后的蛋鸡颈静脉放血屠宰,分离肝脏左叶尖端 1.5 g 左右,装于 2 mL 灭菌
- 102 EP 管中, 立即保存于液氮中, 然后置于-80 ℃冰箱保存, 用于测定肝脏脂质代谢相关基因
- 103 mRNA 的相对表达量。
- 104 根据 NCBI 公布的脂肪酸合成酶 (FAS)、低密度脂蛋白受体 (LDLR)、极低密度脂蛋白
- 105 受体(VLDLR)、腺苷酸激活蛋白激酶(AMPK)和β-肌动蛋白(β-actin)的基因序列来设计
- 106 引物并检测引物的特异性,以β-actin 作为内参基因。引物由 Invitrogen 公司合成,目的基因
- 107 和内参基因β-actin 的引物序列见表 2。
- 108 肝脏组织中 RNA 的提取采用两步法按说明书操作。使用 SYBR® Premix Ex Taq™ Kit

109 (TaKaRa 生物有限公司,日本) 试剂盒进行荧光定量 PCR 测定。采用 Applied Biosystems
110 7900HT Real Time PCR 系统 (Applied Biosystems, CA)进行 PCR 扩增反应,程序如下:95 ℃
111 预变性 30 s; 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 34 s, 40 个循环;熔解曲线条件:95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min,
112 95 ℃ 15 s。参考 Livak 等<sup>[8]</sup>的方法,以β-actin 为内参基因,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算目的基因 mRNA
113 的相对表达量,以相对于对照组的变化倍数表示。

114 表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences (5'-3')

基因	引物序列	登录号
Genes	Primer sequences	Accession number
β- 肌 动 蛋 白	上游: TCAGGGTGTGATGGTATG	NM 205519 1
β-actin	下游: TGTTCAATGGGGTACTTCAGGG	NM_205518.1
脂肪酸合成酶	上游: ACTGTGGGCTCCAAATCTTCA	J04485
FAS	下游: ACCGGTGTTGGTTTGCAAA	J04483
极低密度脂蛋白	上游: AGTGTGCACCTCCAACATGT	NM 205220 1
受体 VLDLR	下游: AGCATCATCACACACCCA	NM_205229.1
低密度脂蛋白受	上游: CACTCCCTCAGCAGTGTGTC	NM 204452 1
体 LDLR	下游: GAGTCCTCGAAGACGGTGAC	NM_204452.1
腺苷酸激活蛋白	上游: TATGCGCAGACTCAGCTGTT	NM 001039603.1
激酶 AMPK	下游: GTAATGCCCAATCTTCACTCGC	14141_001037003.1

- 116 1.5 数据处理与分析
- 117 试验数据采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 并采用 Duncan 氏法
- 118 进行组间多重比较, *P*≤0.05 表示差异显著。
- 119 2 结 果
- 120 2.1 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡生产性能的影响
- 121 由表 3 可知,与对照组相比,2 666 mg/kg 茶多酚组第 1~3 周、第 4~6 周和第 1~9 周
- 122 产蛋率均显著下降(P<0.05)。与对照组相比,各茶多酚添加组的平均日采食量呈不同程度的
- 123 降低,但随着试验进行,各茶多酚添加组的平均日采食量逐渐上升,与对照组的差距逐渐缩

小,2 666 mg/kg 茶多酚组的平均日采食量在第  $1\sim3$  周、第  $4\sim6$  周、第  $7\sim9$  周和第  $1\sim9$  周均显著低于对照组(P<0.05),1 333 mg/kg 茶多酚组的平均日采食量在第  $1\sim3$  周和第  $4\sim6$  周显著低于对照组(P<0.05)且显著高于 2 666 mg/kg 茶多酚组(P<0.05),666 mg/kg 茶多酚组的平均日采食量在第  $1\sim3$  周显著低于对照组(P<0.05),2 666 mg/kg 茶多酚组的平均蛋重在第  $1\sim3$  周和第  $1\sim9$  周显著低于对照组与 666 mg/kg 茶多酚组(P<0.05)。2 666 mg/kg 茶多酚组的平均蛋重在第  $1\sim3$  周和第  $1\sim9$  周显著低于对照组与 666 mg/kg 茶多酚组(P<0.05)。2 666 mg/kg 茶多酚组的料蛋比在第  $1\sim3$  周和第  $4\sim6$  周基著低于对照组(P<0.05)。2 666 mg/kg 茶多酚组的料蛋比在第  $1\sim3$  周和第  $4\sim6$  显著高于其他各组(P<0.05)。

表 3 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡生产性能的影响

Table 3 Effects of adding high doses of TP into diets on performance of laying hens

项目       茶多酚添加剂量						
Items	TP sup	plemental o	lose/(mg/k	g)	SEM	P值 P-value
	0	666	1 333	2 666		
产蛋率 Laying rate/%						
第 1~3 周 Week 1 to 3	84.56ª	83.21 <sup>a</sup>	81.12ª	70.03 <sup>b</sup>	2.70	<0.01
第 4~6 周 Week 4 to 6	81.37 <sup>a</sup>	80.72ª	79.01ª	66.83 <sup>b</sup>	3.08	<0.01
第 7~9 周 Week 7 to 9	79.33	77.55	78.11	71.93	3.23	0.13
第 1~9 周 Week 1 to 9	81.82ª	80.57 <sup>a</sup>	79.45ª	69.47 <sup>b</sup>	2.64	<0.01
平均日采食量 Average daily feed i	ntake/g					
第 1~3 周 Week 1 to 3	114.3ª	109.3 <sup>b</sup>	106.4 <sup>b</sup>	97.4°	1.59	<0.01
第 4~6 周 Week 4 to 6	115.5ª	114.8ª	114.0ª	107.7 <sup>b</sup>	1.56	<0.01
第 7~9 周 Week 7 to 9	116.7ª	115.5ª	115.7ª	106.8 <sup>b</sup>	2.50	<0.01
第 1~9 周 Week 1 to 9	115.5ª	113.0 <sup>ab</sup>	111.9 <sup>b</sup>	103.6°	1.56	<0.01
平均蛋重 Average egg weight/g						
第 1~3 周 Week 1 to 3	64.3ª	63.5ab	62.6 <sup>bc</sup>	61.8°	0.48	<0.01
第 4~6 周 Week 4 to 6	64.4ª	63.7 <sup>ab</sup>	63.4 <sup>b</sup>	63.1 <sup>b</sup>	0.37	0.01
第 7~9 周 Week 7 to 9	63.3	63.1	62.9	62.3	0.43	0.1

第 1~9 周 Week 1 to 9	64.0 <sup>a</sup>	63.4 <sup>ab</sup>	62.9bc	62.4°	0.38	< 0.01
料蛋比 Feed/egg						
第 1~3 周 Week 1 to 3	2.11 <sup>b</sup>	$2.07^{b}$	2.10 <sup>b</sup>	2.27ª	0.07	0.05
第 4~6 周 Week 4 to 6	2.22 <sup>b</sup>	2.24 <sup>b</sup>	2.28 <sup>b</sup>	2.57ª	0.10	<0.01
第 7~9 周 Week 7 to 9	2.33	2.37	2.36	2.41	0.11	0.91
第 1~9 周 Week 1 to 9	2.21	2.22	2.24	2.41	0.08	0.08

134 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(*P*≤0.05), 无字母或相同字母表示差异不显

135 著 (P>0.05)。下表同

136

137

139

140

141

142

143

144

145

146

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P \leq 0.05$ ), while with the same letter or no letter superscripts mean no significant difference

138 (P>0.05). The same as below.

2.2 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡蛋品质的影响

由表 4 可知,与对照组相比,饲粮中添加不同剂量的茶多酚对蛋壳强度、蛋黄颜色、蛋黄比率和蛋白比率均无显著影响(P>0.05)。2 666 mg/kg 茶多酚组哈夫单位在第 2 周显著高于对照组(P<0.05),1 333 mg/kg 茶多酚组哈夫单位在第 4 周显著高于其他各组(P<0.05)。2 666 mg/kg 茶多酚组蛋壳比率在第 2 周显著低于对照组与 1 333 mg/kg 茶多酚组 (P<0.05),且 1 333 mg/kg 茶多酚组蛋壳比率在第 2 周也显著低于对照组(P<0.05)。

表 4 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡蛋品质的影响

Table 4 Effects of adding high doses of TP into diets on egg quality of laying hens

项目		茶多	多酚添加剂量			P 值
		TP supples	mental dose/(mg/	/kg)	SEM	
Items	0	666	1 333	2 666		P-value
蛋壳强度 Eggshell strength/(kg/cm²)	)					
第 2 周 Week 2	3.37	3.37	3.53	3.20	0.18	0.35
第 4 周 Week 4	3.46	3.30	3.58	3.22	0.23	0.41
第 6 周 Week 6	3.48	3.73	3.36	3.67	0.20	0.25
第 9 周 Week 9	3.25	3.22	3.13	3.12	0.25	0.94

蛋黄颜色 Yolk color						
第 2 周 Week 2	9.08	8.79	9.19	9.24	0.18	0.07
第 4 周 Week 4	9.27	9.04	9.31	8.96	0.18	0.17
第6周 Week 6	9.36	9.46	9.56	9.38	0.22	0.80
第 9 周 Week 9	9.50	9.41	9.28	9.28	0.22	0.68
哈夫单位 Haugh unit						
第 2 周 Week 2	83.63 <sup>b</sup>	86.98 <sup>ab</sup>	87.08 <sup>ab</sup>	89.53 <sup>a</sup>	1.92	0.03
第 4 周 Week 4	83.18 <sup>b</sup>	86.21 <sup>b</sup>	90.31 <sup>a</sup>	86.64 <sup>b</sup>	1.68	< 0.01
第6周 Week 6	83.73	86.75	87.26	86.99	2.23	0.41
第9周 Week 9	83.72	83.83	86.85	87.34	2.01	0.15
蛋黄比率 Egg yolk ratio/%						
第 2 周 Week 2	28.83	28.82	29.57	28.54	0.78	0.59
第 4 周 Week 4	29.10	27.93	28.65	29.87	0.91	0.20
第 6 周 Week 6	28.32	27.88	28.00	28.21	0.68	0.91
第 9 周 Week 9	27.92	28.21	28.90	28.25	0.93	0.76
蛋壳比率 Eggshell ratio/%						
第 2 周 Week 2	11.60 <sup>a</sup>	10.84 <sup>bc</sup>	10.97 <sup>b</sup>	10.34 <sup>c</sup>	0.27	< 0.01
第 4 周 Week 4	12.02	11.98	11.99	11.38	0.34	0.18
第 6 周 Week 6	11.60	11.42	11.44	11.06	0.30	0.32
第 9 周 Week 9	11.04	11.14	10.78	10.85	0.35	0.73
蛋白比率 Albumen ratio/%						
第 2 周 Week 2	59.57	60.33	59.46	61.13	0.88	0.21
第 4 周 Week 4	58.88	60.09	59.36	58.75	0.96	0.50
第 6 周 Week 6	60.08	60.69	60.56	60.74	0.79	0.83
第 9 周 Week 9	61.04	60.65	60.32	60.90	0.97	0.89

147 2.3 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡蛋黄胆固醇含量和脂肪酸组成的影响

148 由表 5 可知,与对照组相比,饲粮中添加不同剂量的茶多酚显著影响蛋黄胆固醇含量

150

151

152

153

154

155

156

157

158

159

160

161

(P<0.05),且随着茶多酚添加剂量的增加,蛋黄胆固醇含量有降低趋势。666、1 333 和 2666 mg/kg 茶多酚组蛋黄胆固醇含量显著低于对照组(P<0.05),且 2 666 mg/kg 茶多酚组蛋黄胆固醇含量还显著低于 666 mg/kg 茶多酚组(P<0.05)。饲粮中添加不同剂量的茶多酚对蛋黄脂肪酸组成无显著影响(P>0.05)。

表 5 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡蛋黄胆固醇含量和脂肪酸组成的影响

Table 5 Effects of adding high doses of TP into diets on egg yolk cholesterol content and fatty acid composition

of laying hens 茶多酚添加剂量 项目 P值 TP supplemental dose/(mg/kg) SEM Items P-value 0 666 1333 2666 < 0.01 胆固醇 Cholesterol/(mg/g) 13.49a  $12.68^{b}$ 12.36bc 11.86c 0.26 脂肪酸 Fatty acids/% 肉蔻豆酸 C14:0 0.32 0.31 0.31 0.31 0.02 0.77 棕榈酸 C16:0 26.18 26.09 25.84 25.78 0.52 0.84 棕榈油酸 C16:1 3.09 3.26 3.14 3.06 0.25 0.86 硬脂酸 C18:0 8.9 9.08 0.30 8.79 8.76 0.72 油酸 C18:1 41.66 41.37 42.1 40.94 0.96 0.67 亚油酸 C18:2 12.25 12.91 12.22 13.65 0.67 0.14 亚麻酸 C18:3 0.31 0.31 0.03 0.29 0.28 0.61二十碳一烯酸 C20:1 0.02 0.26 0.28 0.30 0.27 0.33 二十二碳六烯酸 C22:6 0.66 0.62 0.60 0.62 0.03 0.35

2.4 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡血清脂质代谢指标的影响

由表 6 可知,与对照组相比,饲粮中添加不同剂量的茶多酚对蛋鸡血清高密度脂蛋白胆固醇含量无显著影响(P>0.05)。与对照组相比,666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚组血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量显著降低(P<0.05),1 333 和 2 666 mg/kg 茶多酚组血清甘油三酯含量显著降低(P<0.05)。

表 6 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡血清脂质代谢指标的影响

163

164

165

166

167

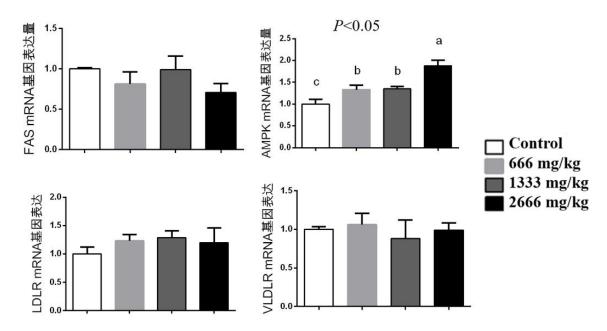
168

169

Table 6 Effects of adding high doses of TP into diets on serum lipometabolism parameters of laying hens

		mmol/L					
项目		茶多酚液	添加剂量			P	值
7.11		TP supplement	al dose/(m	g/kg)	SEM	1	ш.
Items	0	666	1 333	2 666	_	P-value	
总胆固醇 TC	3.91ª	2.86 <sup>b</sup>	2.91 <sup>b</sup>	2.76 <sup>b</sup>	0.41	0.04	
甘油三酯 TG/	20.02ª	15.45 <sup>ab</sup>	14.77 <sup>b</sup>	13.12 <sup>b</sup>	2.26	0.04	
高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C	0.41	0.43	0.47	0.40	0.07	0.71	
低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C	0.14 <sup>a</sup>	$0.06^{b}$	$0.07^{\rm b}$	0.09 <sup>b</sup>	0.02	< 0.01	

2.5 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡肝脏脂质代谢相关基因表达的影响 由图 1 可知,666、1333 和 2666 mg/kg 茶多酚组肝脏 AMPK mRNA 相对表达量显著高



于对照组 (P<0.05),且 2 666 mg/kg 茶多酚组肝脏 AMPK mRNA 相对表达量还显著高于 666 和 1 333 mg/kg 茶多酚组(P<0.05)。肝脏脂质代谢其他相关基因(FAS、LDLR 和 VLDR)mRNA 的相对表达量各组间均差异不显著(P>0.05)。

图 1 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡肝脏脂质代谢相关基因表达的影响

170 Fig.1 Effects of adding high doses of TP into diets on expression of hepatic lipometabolism-related genes of 171 laying hens 172 3 讨 论 173 3.1 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡生产性能的影响 174 通过对蛋鸡进行 9 周的茶多酚饲喂试验,结果表明,添加 666 mg/kg 茶多酚时,对蛋鸡 175 产蛋率没有显著影响,而添加 2 666 mg/kg 茶多酚后蛋鸡的产蛋率显著下降。这可能与本试 176 验发现的添加茶多酚以后降低了蛋鸡的采食量有关。这与前人研究结果并不相同, 楼洪兴等 177 [5]在饲粮中添加 250、550 和 666 mg/kg 茶多酚(纯度为 40%)后发现对蛋鸡的产蛋率有一 定改善作用,但随着茶多酚的添加剂量的提高未见有增高趋势。楼洪兴等的的试验结果与本 178 179 试验结果不同的原因可能是茶多酚的来源和添加剂量的不同,本试验添加的茶多酚产品中含 有一部分咖啡碱(6.84%),而咖啡碱可能与蛋鸡采食量的降低有关,且本试验中茶多酚的 180 181 添加剂量远远高于楼洪兴等[5]的试验。 182 本试验中,饲粮中添加不同剂量的茶多酚均可降低蛋鸡的平均蛋重,这与相关报道相近, 例如,饲粮中添加 0.67%茶叶提取物略微降低平均蛋重[9],饲粮中添加 5%和 10%绿茶粉显 183 著降低蛋重[10]。除采食量降低是影响蛋重的原因外,儿茶素抑制了肠道对脂肪的吸收和脂 184 肪酶活性,使蛋黄脂质形成受阻[9-10],也会影响蛋重。 185 本试验中,各茶多酚添加组料蛋比均高于对照组,与前人研究结果不相同。王人悦!!! 186 187 试验表明茶多酚显著降低料蛋比; 汪小红等[12]研究发现,400 mg/kg 茶多酚显著降低了试验 188 期前 4 周的平均蛋重, 200 mg/kg 茶多酚显著降低了试验期后 4 周的料蛋比。上述研究结果 189 与本试验结果不同的原因可能是茶多酚的来源和添加剂量的不同。 饲粮中添加不同剂量的茶多酚后蛋鸡平均日采食量均下降,产蛋率和平均蛋重下降及料 190 蛋比的升高均与采食量下降有极大关系。据尹靖东等[13]报道,饲喂蛋鸡绿茶粉时,随着绿 191 茶粉添加剂量的增加,蛋鸡的采食量也增加,这与本试验结果不相同。Biswas 等印报道,饲 192 193 粮中添加 0.3%的绿茶粉 (饲粮中茶多酚含量约为 600 mg/kg) 可使蛋鸡的采食量显著下降, 194 本试验结果与之相似。造成结果不同的原因可能有: 蛋鸡对茶多酚本身或咖啡碱的苦涩味并 195 不适应,蛋鸡对茶多酚有一个逐渐的适应过程,在试验初期蛋鸡采食量急剧下降,之后逐渐

增加;另外,茶多酚中含有的酚酸、咖啡碱及缩合单宁等抗营养因子[14],破坏或阻碍蛋鸡

- 197 对营养物质的消化吸收,造成蛋白质消化率下降,产生食欲不振[15]等症状。
- 198 3.2 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡蛋品质的影响
- 199 在试验第2周,2666 mg/kg 茶多酚组蛋壳比率显著低于对照组,这可能与本试验使用
- 200 的茶多酚产品中含有部分咖啡碱(6.84%)有关。有前人研究表明,咖啡碱的摄入会导致钙
- 201 的流失和骨质疏松等不良反应,可明显遏制钙在消化道中的吸收,使体内缺钙,从而影响蛋
- 202 壳质量,造成蛋壳比率下降[16-17]。
- 203 饲粮中添加茶多酚能够增加鸡蛋的哈夫单位,哈夫单位能够反映蛋的新鲜程度[18]。影
- 204 响鸡蛋哈夫单位的因素有贮存时间和温度以及蛋鸡年龄、应激、营养、营养素的补充、疾病
- 205 等[19-20], 在环境和条件相同的情况下, 营养是影响鸡蛋哈夫单位的关键因素。自由基会对蛋
- 206 白质造成损伤,导致蛋白质变性或功能丧失[21],而茶多酚具有很强的清除自由基能力,饲
- 207 粮中添加茶多酚增加鸡蛋的哈夫单位的主要原因可能就与其具有抗氧化功能有关。
- 208 儿茶素可能会抑制肠道脂肪的吸收和脂肪合酶的活性,从而造成蛋黄脂质形成受阻[22]。
- 209 本试验发现茶多酚对蛋黄比率无显著影响,可以推测添加茶多酚后蛋重降低并不是因为茶多
- 210 酚抑制肠道脂肪的吸收和脂肪酶的活性引起的,更可能是因为茶多酚中的抗营养因子影响了
- 211 蛋鸡的生产性能。
- 212 本试验中,饲粮中添加茶多酚能够降低蛋黄中胆固醇的含量,与齐广海等[23]报道的随
- 213 着饲粮中茶多酚添加剂量的增加,蛋黄胆固醇含量逐渐下降的趋势一致。鸡蛋中胆固醇大部
- 214 分来自母鸡肝脏合成的脂蛋白,主要是极低密度脂蛋白(VLDL),其次是卵黄蛋白原,蛋
- 215 鸡肝脏和卵巢是胆固醇生物合成的主要场所, 肝脏可以高速度合成胆固醇, 并且能够快速将
- 216 胆固醇以脂蛋白形式运送到血液,血液中的胆固醇大部分随 VLDL 转入蛋黄,以产蛋的形
- 217 式排出[24]。
- 218 3.3 饲粮中添加高剂量茶多酚对蛋鸡血清脂质代谢指标的影响
- 219 本试验中,饲粮中添加不同剂量的茶多酚均降低了蛋鸡血清总胆固醇、甘油三酯与低密
- 220 度脂蛋白胆固醇含量,这与楼洪兴等[5]得出的在饲粮中添加 0.4%茶多酚可降低 46 周龄蛋鸡
- 221 血清胆固醇、甘油三酯与低密度脂蛋白含量的结果相似。随着茶多酚添加剂量的增加,血清
- 222 甘油三酯含量有降低趋势,说明脂肪分解增强。茶多酚降血脂作用机制可能与雌激素有关,
- 223 茶多酚可通过调节雌激素、削弱雌激素维持高血脂的作用,表现出降血脂作用;此外,茶多

- 224 酚能够通过抑制体内生脂酶活性和基因表达,从而抑制肝脏中脂类的合成。
- 225 3.4 饲粮中添加高剂量茶多酚对肝脏脂质代谢相关基因表达的影响
- 226 肝脏在家禽的脂质代谢中起着重要的作用,是脂肪酸从头合成的主要部位<sup>[25]</sup>,占脂肪
- 227 酸合成量的 90%以上。动物体内脂肪组织合成与分解的调控比较复杂,主要是由脂质代谢
- 228 关键酶来完成,酶蛋白的多寡和活性的高低是由关键酶基因的表达量来决定的。AMPK 是
- 229 维持体内能量平衡的关键物质[26]。AMPK 被活化的同时使机体代谢方向朝着抑制耗能的合
- 230 成代谢、促进产能的分解代谢方向进行。AMPK 被活化后,可以在许多组织中对脂质代谢
- 231 进行调节。在肝脏组织中, AMPK 可以促进脂肪酸氧化, 降低胆固醇、甘油三酯的合成,
- 232 抑制脂肪酸的产生。本试验发现,与对照组相比,饲粮中添加 666、1 333 和 2 666 mg/kg 茶
- 233 多酚均可以显著升高肝脏 AMPK mRNA 的相对表达量,对其他肝脏脂质代谢相关基因
- 234 mRNA 的相对表达量无显著影响。近几年的大量研究表明, AMPK 基因被激活后,可以降
- 235 低动物细胞及机体中脂肪酸及胆固醇的合成[27]。AMPK 可以抑制固醇调节元件序列,固醇
- 236 调节元件结合蛋白通过结合固醇调节元件来起到转录激活 LDLR 基因的表达,从而加快胆固
- 237 醇的合成与代谢。AMPK 在动物试验上取得了相当多的研究成果,为降低鸡蛋中胆固醇的
- 238 含量提供了新的思路。根据 AMPK 在脂质代谢中起到的重要作用,我们可以推测,茶多酚
- 239 可能通过调控 AMPK 基因的表达进而影响蛋鸡胆固醇的代谢。
- 240 4 结 论
- 241 ① 饲粮中添加高剂量(1333和2666 mg/kg)茶多酚会降低蛋鸡的生产性能,但可提
- 242 高鸡蛋的哈夫单位,降低蛋黄胆固醇含量以及血清总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和甘油三
- 243 酯含量。
- 244 ② 饲粮中添加高剂量 (1 333 和 2 666 mg/kg) 茶多酚上调了蛋鸡肝脏 AMPK 基因的表
- 245 达,对肝脏其他脂质代谢相关基因的表达没有产生显著影响。
- 246 参考文献:
- 247 [1] DEVINE P J,PERREAULT S D,LUDERER U.Roles of reactive oxygen species and
- 248 antioxidants in ovarian toxicity[J].Biology of Reproduction,2012,86(2):1–10.
- 249 [2] YANG C S,LAMBERT J D,SANG S M.Antioxidative and anti-carcinogenic activities of tea
- polyphenols[J]. Archives of Toxicology, 2009, 83(1):11–21.

- 251 [3] 张光玉.茶多酚——一种极有潜力的新型饲料添加剂[J].饲料博览,1999(11):7-10.
- 252 [4] UUGANBAYAR D,BAE I H,CHOI K S,et al.Effects of green tea powder on laying
- 253 performance and egg quality in laying hens[J]. Asian-Australasian Journal of Animal
- 254 Sciences, 2005, 18(12): 1769–1774.
- 255 [5] 楼洪兴,林智,王友明,等.茶多酚对蛋鸡生产性能、脂类代谢及蛋品品质的影响[J].茶叶科
- 256 学,2004,24(2):135-140.
- 257 [6] 张旭,蒋桂韬,王向荣,等.茶多酚对蛋鸡生产性能、蛋品质和蛋黄胆固醇含量的影响[J].动
- 258 物营养学报,2011,23(5):869-874.
- 259 [7] BISWAS M A H, WAKITA M. Comparison of two dietary factors, green tea powder feeding
- and feed restriction, influencing laying performance and egg quality in hens[J]. Faculty of
- 261 Bioresources Mie University, 2001, 25(26):55–61.
- 262 [8] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time
- quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  Method[J].Methods,2001,25(4):402–408.
- 264 [9] YAMANE T,GOTO H,TAKAHASHI D,et al.Effects of hot water extracts of tea on
- performance of laying hens[J]. Japanese Poultry Science, 1999, 36(1):31–37.
- 266 [10] SADAO K, YUKO Y. Effects of green tea powder feed supplement on performance of hens
- in the late stage of laying[J].International Journal of Poultry Science, 2008, 7(5):491–496.
- 268 [11] 王人悦.绿茶粉及茶多酚对蛋鸡血液生化指标、生产性能及鸡蛋品质的影响[D].硕士学
- 269 位论文.合肥:安徽农业大学,2007.
- 270 [12] 汪小红,武书庚,崔耀明,等.茶多酚对蛋鸡生产性能、蛋品质和抗氧化能力的影响[J].动
- 271 物营养学报,2017,29(1):193-201.
- 272 [13] 尹靖东,齐广海,霍启光.类黄酮对蛋鸡脂类代谢的影响[J].畜牧兽医学
- 273 报,2002,33(3):215-220.
- 274 [14] 吕娜.茶叶的生物活性成分及其生物学作用[J].产业与科技论坛,2014(21):63-64.
- 275 [15] 岳三立.饲料中主要抗营养因子作用机理及其防治措施[J].农家科技旬刊,2016(11):366.
- 276 [16] TSUANG Y H,SUN J S,CHEN L T,et al.Direct effects of caffeine on osteoblastic cells
- 277 metabolism:the possible causal effect of caffeine on the formation of osteoporosis[J].Journal of

- 278 Orthopaedic Surgery and Research, 2006, 1:7.
- 279 [17] HALLSTRÖM H, WOLK A, GLYNN A, et al. Coffee, tea and caffeine consumption in
- 280 relation to osteoporotic fracture risk in a cohort of Swedish women[J].Osteoporosis
- 281 International, 2006, 17(7):1055–1064.
- 282 [18] 张兰威.蛋制品工艺学[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,1996.
- 283 [19] ROBERTS J R.Factors affecting egg shell and internal egg quality[C]//LE MERIDIEN S
- 284 R.18th Annual ASAIM Southeast Asian Feed Technology and Nutrition
- Workshop.Cambodia:ASAIM,2010.
- 286 [20] PUTHPONGSIRIPORN U, SCHEIDELER S E, SELL J L, et al. Effects of vitamin E and C
- supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying
- hens during heat stress[J].Poultry Science,2001,80(8):1190–1200.
- 289 [21] 高斌,高洪.氧自由基与细胞损伤[J].动物医学进展,2002,23(5):34-36.
- 290 [22] 曹鹤瑶,何伟逸,王琳琳,等.绿茶作为肠道内脂质消化吸收抑制剂的研究进展[J].食品科
- 291 技,2013,38(11):62-65.
- 292 [23] 齐广海,郑君杰,尹靖东,等.类黄酮物质对蛋鸡抗氧化和脂质代谢的影响[J].营养学
- 293 报,2002,24(2):153-157.
- 294 [24] 王继强,龙强,李爱琴,等,降低鸡蛋胆固醇的营养调控措施[J].家禽科学,2008(9):39-42.
- 295 [25] PEARCE J.Some differences between avian and mammaeian biochemistry[J].International
- 296 Journal of Biochemistry, 1977, 8(4):269–275.
- 297 [26] HARDIE D G, CARLING D, CARLSON M. The AMP-activated/SNF1 protein kinase
- 298 subfamily:metabolic sensors of the eukaryotic cell?[J].Annual Review of
- 299 Biochemistry, 1998, 67(1):821-855.
- 300 [27] WINDER W W,HARDIE D G.Inactivation of acetyl-CoA carboxylase and activation of
- 301 AMP-activated protein kinase in muscle during exercise[J]. American Journal of
- 302 Physiology,1996,270(2 Pt 1):E299–E304.

304 Effects of Adding High Doses of Tea Polyphenols into Diets on Performance, Egg Quality and

305 Lipid Metabolism of f Laying Hens during Later Laying Period 306 HE Junjin WANG Jianping DING Xuemei ZENG Qiufeng BAI Shiping ZHANG 307 Keying\* 308 (Institute of Animal Nutrition, Key Laboratory for Animal Disease-Resistance Nutrition of China 309 Ministry of Education, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China) 310 Abstract: This experiment was conducted to study the effects of adding high doses of tea 311 polyphenols (TP) into diets on performance, egg quality and serum lipometabolism parameters 312 and hepatic lipometabolism-related gene expression of laying hens during later laying period. A 313 total of 480 Lohmann laying hens (65-week-old) were randomly allotted into 4 groups with 8 314 replicates per group and 15 hens per replicate. The laying hens in control group were fed a basal diet, and those in experimental groups were fed the basal diets supplemented with 666, 1 333 and 315 316 2 666 mg/kg TP (its purity reached 63.58%, and the content of catechin in it was 40.20%), 317 respectively. There was a pretrial period of 2 weeks followed by an experimental period of 9 318 weeks. The results showed as follows: 1) compared with the control group, adding 2 666 mg/kg 319 TP significantly decreased the laying rate of week 1 to 3, 4 to 6 and 1 to 9 (P<0.05), significantly decreased the average daily feed intake of week 1 to 3, 4 to 6, 7 to 9 and 1 to 9 (P<0.05), and 320 321 significantly increased the feed/egg of week 1 to 3 and 4 to 6 (P<0.05); adding 1 333 and 2 666 322 mg/kg TP significantly decreased the average egg weight of week 1 to 3, 4 to 6 and 1 to 9 (P<0.05). 2) Compared with the control group, adding 2 666 mg/kg TP significantly increased the 323 Haugh unit of week 2 (P<0.05), and significantly decreased the eggshell ratio of week 2 324 325 (P<0.05); adding 1 333 mg/kg TP significantly increased the Haugh unit of week 4 (P<0.05), 326 and significantly decreased the eggshell ratio of week 2 (P<0.05); adding 666, 1 333 and 2 666 327 mg/kg TP significantly decreased egg yolk cholesterol content of week 9 (P<0.05); adding 666, 1 333 328 and 2 666 mg/kg TP did not significantly affect the eggshell strength, egg yolk color, egg yolk 329 ratio, albumen ratio and egg yolk fatty acid composition (P>0.05). 3) Compared with the control 330 group, adding 666, 1 333 and 2 666 mg/kg TP significantly decreased the serum total cholesterol 331 (TC) and low density lipoprotein cholesterin (LDL-C) contents (P<0.05); adding 1 333 and 2

666 mg/kg TP significantly decreased the serum triglyceride (TG) content ( $P$ <0.05). 4) Compared
with the control group, adding 666, 1333 and 2 666 mg/kg TP significantly increased the mRNA
relative expression level of AMP-activated protein kinase ( $AMPK$ ) in liver ( $P$ <0.05). In conclusion
adding high doses (1 333 and 2 666 mg/kg) of TP into diets cause the decrease of performance of
laying hens during later laying period, but can increase the Haugh unit of egg, decrease the serum
TC and LDL-C contents and egg yolk cholesterol content, and up-regulate the expression of
AMPK gene in liver.
Key words: tea polyphenols; laying hens; performance; egg quality; lipid metabolism